

УДК 615.453

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТОТИПОВ
ТВЕРДЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ФУНКЦИЕЙ КОНТРОЛИРУЕМОГО
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ**А.В. Болтовская¹, Д.А. Федоришин¹, А.А. Волохова^{1,2}

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: strix187@yandex.ru**DEVELOPMENT OF A METHOD FOR STUDYING ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOLID DRUG
DOSAGE FORMS PROTOTYPES WITH THE FUNCTION OF CONTROLLED RELEASE
OF ANTIBIOTICS**A.V. Boltovskaya¹, D.A. Fedorishin¹, A.A. Volokhova^{1,2}

Scientific Supervisor: Prof., Doctor of physical and mathematical sciences I.A. Kurzina

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: strix187@yandex.ru

Abstract. Currently, there are many methods for testing the antibacterial activity of solid dosage forms intended for targeted delivery and controlled release of drugs. The standard diffusion method has a number of limitations, the main one of which is the impossibility of assessing the antibacterial activity of samples in vitro under conditions of skin damage. Infiltration method has been developed, which allows a deeper assessment of the antibacterial activity of solid dosage forms. As a result of a study on a polymer scaffold model, it was found that targeted delivery of chloramphenicol can potentially increase the growth inhibition of both *S. aureus* and *E. coli*, which will further reduce the systemic dose of drugs prescribed to patients.

Введение. В настоящее время биodeградируемые полимеры считаются очень подходящими кандидатами в качестве материалов для изготовления средств адресной доставки лекарств. В частности, примером таких материалов являются волокнистые полимерные скаффолды, изготовленные методом электроспиннинга. В их структуру могут быть включены антибактериальные вещества, такие как хлорамфеникол [1]. Их уникальные свойства выражаются в активном подавлении роста и развития раневой микрофлоры за счет высвобождения антибактериального средства. Материалы с контролируемым высвобождением можно использовать для уменьшения дозировки лекарственного средства, необходимого для получения аналогичного терапевтического эффекта [2]. Однако тестирование образцов подобного рода сопряжено с множеством трудностей методического характера. Обычно для доклинических исследований антимикробной активности прототипов перевязочных материалов применяется диско-диффузный метод [3]. Значительным ограничением стандартного метода

является невозможность оценки антибактериальной активности образцов *in vitro* в условиях повреждения кожи, предполагающей постоянную инфильтрацию биологических жидкостей – крови, лимфы, экссудата.

Целью исследования является разработка методики изучения антимикробной активности твердых лекарственных форм с функцией контролируемого высвобождения лекарственных средств.

Материалы и методика исследования. Для апробации методики оценки антибактериальной активности были выбраны предварительно подвергнутые магнетронному напылению титана в атмосфере азота скаффолды (шифр «PLLA-CHL» и «PLLA-CHL-M» соответственно), имеющие в составе хлорамфеникол – антибиотик широкого спектра действия. В качестве отрицательного контроля использовались скаффолды без хлорамфеникола в составе (PLLA и PLLA-M). Для изучения антибактериальной активности полученных скаффолдов были применены две разные модели: традиционный диско-диффузионный метод и «инфильтрационная модель». В обеих моделях образцы помещали на поверхность плотной агаризованной среды. Хлорамфеникол из скаффолдов диффундировал в среду, образуя зоны подавления роста бактерий. Для изучения влияния образцов на грамположительную и грамотрицательную микрофлору в качестве тест-объектов использованы бактерии Стафилококк золотистый (*Staphylococcus aureus*) и Кишечная палочка (*Escherichia coli*) ATCC 25922 (American Type Culture Collection). Ключевой особенностью разработанного метода является моделирование сходных с влажной средой раны условий. Для имитации антибактериальной активности образцов в условиях повреждения кожи испытуемые образцы переносили в чашки Петри с аналогичным посевом каждые 24 часа с последующим измерением зоны ингибирования. При этом моделировались такие параметры, как кровотечение, отток раневого отделяемого и вторичная бактериальная инфекция.

Результаты. Незагруженные антибиотиком образцы (PLLA и PLLA-M) не показали антибактериального эффекта. Магнетронное распыление титановой мишени не обеспечивает антибактериальные свойства поверхности скаффолдов.

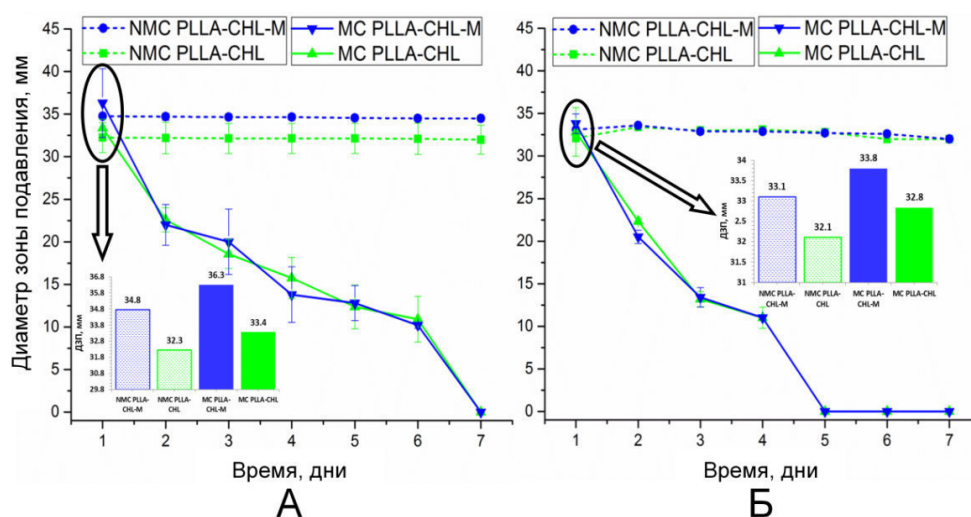


Рис. 1. Динамика зон ингибирования роста тестовых объектов: традиционный диско-диффузионный метод «NMC» - пунктирные линии; инфильтрационная модель «МС» - сплошные линии; необработанные образцы - зеленые линии; обработанные образцы - синие линии;
А – грамотрицательная микрофлора (*Escherichia coli*);
Б – грамположительная микрофлора (*Staphylococcus aureus*)

Образцы групп PLLA-CHL и PLLA-CHL-M показали значительную антибактериальную активность. Антибактериальная активность контрольных образцов обеих групп как для грамположительной, так для грамотрицательной микрофлоры не изменялась на протяжении всего эксперимента ($p > 0.05$). Активность группы PLLA-CHL-M в первый день несколько выше, чем активность группы PLLA-CHL (Рис. 1., гистограммы А-Б). Эти результаты коррелируют с ранее проведенными экспериментами по высвобождению лекарства: обработка увеличивает скорость высвобождения лекарства в первый день экспозиции.

Наблюдаемая активность скаффолдов на разных моделях носит разный характер: без изменения среды зоны ингибирования постоянны, а с изменением среды их диаметр уменьшается в течение эксперимента. По отношению к грамотрицательной микрофлоре активность сохраняется дольше, чем по отношению к грамположительной. Периоды времени, когда образцы проявляют антибактериальную активность в отношении грамотрицательной и грамположительной микрофлоры, составляют 6 и 4 дня соответственно. Это выражается в статистически значимом уменьшении диаметра зон подавления роста микрофлоры при каждой смене среды ($p < 0,05$). Как видно из графиков, антибактериальная активность образцов в отношении грамотрицательной микрофлоры постепенно снижается. В то же время интенсивность снижения уровня активности близка к линейной (Рис. 1). В случае грамположительной микрофлоры интенсивность снижения уровня активности в первые 3 дня также близка к линейной. На третьи и четвертые сутки уровень антибактериальной активности несколько снижается, достигая плато. После четвертых суток снижение также продолжается линейно (Рис. 1). Снижение антибактериальной активности скаффолды может быть связано с тем, что препарат постоянно выделяется из полимерных матриц в измененную среду. Таким образом, результаты показывают, что скаффолды PLLA-CHL и PLLA-CHL-M могут успешно предотвращать рост бактерий.

Заключение. Разработанный подход позволяет провести более глубокую оценку антибактериальной активности твердых лекарственных форм, предназначенных для адресной доставки и контролируемого высвобождения антибиотиков. На модели полимерных скаффолдов показано, что адресная доставка хлорамфеникола может потенциально увеличить ингибирование роста как *S. aureus*, так и *E. coli*, что в дальнейшем позволит снижать назначаемую пациентам системную дозу препаратов. Кроме того, магнетронное напыление не снижает антибактериальную активность образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ракина А.А. Синтетические биodeградируемые матриксы на основе полимолочной кислоты как агенты для адресной доставки хлорамфеникола // Высокие технологии в современной науке и технике (BTCNT-2016): Сборник научных трудов V Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов. – Томск, 2016. – С. 168–169.
2. Wu D.Y., Wang S.S., Wu C.S. Antibacterial properties and cytocompatibility of biobased nanofibers of fish scale gelatine, modified polylactide, and freshwater clam shell // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – V. 165 (Pt A). – P. 1219-1228.
3. ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар. [Текст]. – М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 39 с.